



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

## Cuantificación de Nitritos y Nitratos en Algunos de los Embutidos que se Consumen en la Ciudad de México

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
**Rosenda Martínez Robledo**  
MEXICO, D. F. 1978



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS 1978

CLAS \_\_\_\_\_

AÑO M. T. 2000 2000

FECHA \_\_\_\_\_

PROC \_\_\_\_\_

*RAB 274*



JURADO ASIGNADO  
ORIGINALMENTE  
SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA
VOCAL	CESAR A. DOMINGUEZ CAMACHO
SECRETARIO	MA TERESA COPPOLA FERNANDEZ
1er.SUPLENTE	ENRIQUE CALDERON GARCIA
2do.SUPLENTE	ANA MA MENDEZ CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: PROCURADURIA GENERAL DE  
LA REPUBLICA

SUSTENTANTE

Rosenda Martínez Robledo  
Rosenda Martínez Robledo

ASESOR DEL TEMA

Ignacio Diez de Urdanivia  
Q.F.B. Ignacio Díez de Urdanivia

SUPERVISOR TECNICO

Ana María Méndez Chávez  
Q.F.B. Ana María Méndez Chávez

A mis padres  
con cariño y respeto

A mi tía Margarita  
con mi eterno agradecimiento

A mis abuelos  
por su apreciable ayuda

A mi novio  
por su cariño y apoyo

Al Señor Licenciado Don Oscar  
Flores Sánchez. Procurador Ge  
neral de la República.

## A G R A D E C I M I E N T O

Agradezco a todas aquellas personas que prestaron su ayuda para hacer - posible la realización de esta tesis, en especial a:

Q.F.B. Ignacio Díez de Urdanivia.

Q.F.B. Ana María Méndez Chávez.

## I N D I C E

	<u>Pág.</u>
INTRODUCCION.	1
1. GENERALIDADES.	4
2. PROCEDIMIENTO UTILIZADO PARA CUANTI FICACION.	28
3. ENUMERACION DE LOS EMBUTIDOS ANALI ZADOS Y RESULTADOS.	35
CONCLUSIONES.	55
BIBLIOGRAFIA.	56

## I N T R O D U C C I O N

En los últimos años se ha desarrollado un gran interés por -- parte de los investigadores en el campo del proceso, manufactura y almacenaje de alimentos.

Anteriormente no era de gran preocupación e interés el cono-- cer los efectos que pudieran producir las sustancias emplea-- das en los procesos de elaboración de alimentos, pero a últi-- mas fechas investigaciones realizadas durante períodos de cor-- ta y larga duración en animales de laboratorio con base en -- pruebas fisiológicas, bioquímicas y farmacológicas han demos-- trado que muchas de estas sustancias resultan tóxicas no so-- lo para los animales de experimentación sino también a los se res humanos.

La mayor parte de estas investigaciones se prolongan bastante tiempo, a veces por años, hay que hacer notar que entre el -- hombre y los animales existen diferencias metabólicas aprecia bles, y también existen diferencias en los períodos de genera ción, hechos que debemos tomar en cuenta al transferir los re sultados obtenidos en la experimentación, principalmente en -- caso de enfermedades como el cáncer humano.

En estos estudios que se han realizado, una de las substan -- cias que se ha podido demostrar que tienen un efecto tóxico -- en el hombre y los animales (de experimentación) son los adi tivos, que en términos de manufactura se definen como una --- sustancia o mezcla de sustancias distintas a las materias -- básicas que están presentes en el alimento como resultado de la acción premeditada en el procesamiento, almacenaje, o em -- paque del alimento.

Muchos de estos compuestos se adicionan a los alimentos para

protegerlos contra la putrefacción, resaltar su sabor, mejorar su valor nutritivo o para producir nuevas o mejores propiedades específicas.

Puesto que en los animales, los aditivos pueden ser metabolizados o almacenados, es importante saber como son absorbidos, cual es la trayectoria metabólica, que transformaciones sufre, cual es la principal vía de eliminación, como se distribuyen en los órganos, así como datos de su probable acumulación.

Aparentemente se podría decir, que la experimentación realizada en el hombre, sería definitiva a este respecto, a pesar de que la tendencia es a extrapolar los resultados obtenidos con animales.

En este caso en particular, efectuamos el estudio de la cuantificación de los nitratos y nitritos en algunos de los embutidos que se consumen en la Ciudad de México, ya que como veremos posteriormente los nitratos y nitritos están incluidos en la clasificación de aditivos con funciones específicas en particular.

Por estudios realizados en los últimos 7 años, se ha visto -- que estos aditivos (nitratos y nitritos) al desintegrarse el alimento en el que están agregados, al reaccionar con el ácido nitroso produce aminas secundarias y terciarias, las cuales se ha comprobado que forman por reacciones posteriores -- unos compuestos llamados nitrosaminas, y no se tardó mucho en comprobar que algunas de estas nitrosaminas fueran carcinogénicas, y ciertos compuestos de estos produjeron cáncer en animales de prueba.

Entre otras muchas reacciones y transformaciones que sufre el nitrito dentro del organismo humano cabe mencionar la reacción con mioglobina, la formación del nitrato, la evolución de gases, la reacción con grupos sulfidrílicos y otras reacciones.

En esta tesis se mostrará que alimentos, en este caso embuti-  
dos, fueron analizados, los métodos seleccionados para dicha  
determinación y los resultados que se obtuvieron, haciendo én  
fasis en que este trabajo es solo un pequeño estudio del efect  
to de los aditivos en alimentos sobre los seres vivos, desean  
do que en el futuro investigaciones hechas a largo plazo en -  
cuentren una solución a este problema de vital importancia paa  
ra la salud humana, y si se llega a determinar que dichas ---  
substancias (nitratos y nitritos) producen cáncer en los humao  
s, buscar substitutos para ellas, las cuales previo estudio  
demuestren resultar inocuas para los humanos.

= = = = =

= = = = =

= = = =

## I) GENERALIDADES.

ADITIVOS ALIMENTARIOS.Definición y Características Generales.

Gran porcentaje de los alimentos está constituido por compuestos químicos, clasificados como carbohidratos, grasas, proteínas, vitaminas, sales minerales, agua, etc, pero se les pueden adicionar productos químicos ya sea en forma directa o indirecta durante la producción, almacenaje o procesamiento.

Muchos de estos compuestos pueden adicionarse a los alimentos para protegerlos contra la putrefacción, resaltar su sabor, mejorar su valor nutritivo o para producir nuevas o mejores propiedades específicas.

En términos de manufactura, un aditivo es definido como una sustancia o mezcla de sustancias, distintas a las materias básicas, que están presentes en el alimento como resultado de la adición premeditada en el procesamiento, almacenaje o empaque del alimento. En general, la adición tiene un objeto de finido y de ninguna forma va en detrimento del valor alimenticio del producto.

El término aditivo no incluye los contaminantes ocasionales, ni los productos químicos agrícolas utilizados en la producción de cultivos alimenticios, en la alimentación de ganado, que pueden aparecer en el producto como residuos. Estos productos son contaminantes indeseables y no de productos adicionados para cubrir necesidades técnicas.

A veces este grupo de aditivos recibe el nombre de aditivos involuntarios, ya que no tienen un propósito útil en el producto final, sino constituyen un peligro para la salud y no

son aditivos en el sentido de la palabra. Entre estos están los lubricantes, materiales de envase y empaque, trazas de plástico provenientes de la maquinaria y sustancias adicionales exprofeso al alimento para provocar una reacción química o producir un efecto físico deseado.

### Condiciones de Uso.

Las condiciones en que el uso de los aditivos alimenticios se justifica, están en relación con los beneficios que reportan al consumidor, por ejemplo:

- a) mantener la calidad nutritiva del alimento.
- b) mejorar la estabilidad y durabilidad con reducción en el desperdicio del alimento.
- c) hacer más atractivo el alimento al consumidor.

Su uso no se justifica para:

- a) encubrir fallas en el procesado, mala calidad de las materias primas y técnicas defectuosas de manejo.
- b) engañar al consumidor.
- c) producir una reducción substancial del valor nutritivo del alimento.

### Principios de Evaluación de Aditivos.

- a) no se deben tolerar aditivos en los alimentos, si no tienen propósitos útiles.
- b) puede permitirse el uso de un material no nutritivo si facilita la producción o procesado, y es inocua en la cantidad presente.
- c) puede permitirse este material, si da cualidades deseables al alimento terminado y se considera inofensivo.
- d) si una sustancia de toxicidad conocida, tiene un propósito útil en el procesado, y no se puede substituir por un material inocuo, puede permitirse su uso, si la concentración a la que se usa es inofensiva.

En los últimos años, los desarrollos en las tecnologías, para la conservación de alimentos han sido impresionantes y se puede llegar a eliminar la necesidad de emplear muchos aditivos, especialmente los conservadores.

### Toxicidad de Aditivos.

La toxicidad es la capacidad de las sustancias para producir daño en los organismos humanos. Es de importancia establecer la inocuidad del empleo de los aditivos. Para aceptar o rechazar un aditivo se toman como base pruebas fisiológicas, farmacológicas y bioquímicas efectuadas en animales de laboratorio a veces en seres humanos, realizadas por investigadores capacitados.

Los estudios de la toxicidad, incluyen experimentaciones de corta y larga duración. Los estudios de larga duración abarcan la mayor parte de la vida de los animales de experimentación y su importancia radica en las determinaciones del peligro de carcinogénesis.

En la mayor parte de los estudios estos se prolongan por años, con generaciones enteras de animales provenientes de diferentes especies. Sin embargo, hay que mencionar, que entre el hombre y los animales existen diferencias metabólicas apreciables, y también en períodos de generación, hechos que deben tomarse en cuenta al transferir los resultados obtenidos en la experimentación, principalmente en los casos de enfermedades como el cáncer humano que requiere de grandes períodos para desarrollarse.

Puesto que en los animales, los aditivos pueden ser metabolizados o almacenados, es importante saber como son absorbidos, cual es la trayectoria metabólica, que transformaciones sufren o pueden sufrir, cual es la principal vía de eliminación, como se distribuyen en los órganos, así como datos de su pro-

bable acumulación.

Aparentemente se podría concluir, que la experimentación realizada en el hombre, sería definitiva a este respecto, a pesar de que la tendencia es a extrapolar los resultados obtenidos con animales.

De cualquier modo, la decisión para aceptar un aditivo, corresponde a las autoridades sanitarias y debe fundarse, en que la dosis de empleo, esté por debajo del nivel peligroso para los humanos.

#### Clasificación de Aditivos.

Los aditivos se clasifican en:

##### a) Aditivos Funcionales.

Son los aditivos empleados en la elaboración de alimentos — principalmente por sus efectos funcionales en el producto final. Es decir, desempeñan una función básica y técnica definida como por ejemplo dar color, impartir aroma y sabor, mejorar consistencia y textura, etc.

Entre estos están los siguientes:

1. Preservativos.
2. Antioxidantes.
3. Acidulantes.
4. Neutralizadores y reguladores.
5. Emulsivos y estabilizadores.
6. Humectantes.
7. Agentes de maduración.
8. Agentes de blanqueo.
9. Saborizantes.
10. Edulcorantes.
11. Colorantes.

#### b) Aditivos de Enriquecimiento.

Son aquellos aditivos empleados con el fin de mejorar el valor nutritivo del alimento. Estos aditivos comprenden:

1. Vitaminas.
2. Aminoácidos.
3. Concentrados proteicos.
4. Sales minerales.

#### c) Aditivos dietéticos.

Este grupo incluye todas las sustancias y materias primas empleadas en la elaboración de alimentos para uso dietético, -- principalmente substitutos de carbohidratos (azúcares) si bien incluyen otras sustancias para impartir características perdidas al substituir los carbohidratos y grasas.

Entre estos están:

1. Edulcorantes sintéticos.
2. Substitutos de grasas.
3. Substitutos de carbohidratos.
4. Substitutos de sal.

#### Efecto del pH.

El pH es importante para la aromatización de los alimentos. -- Así, con los sabores de la carne se observa como el sabor es percibido y aceptado en determinados rangos de pH, de lo que se puede desprender que el sabor funciona como un indicador -- de acidez--alcalinidad y tiene su máximo desarrollo a determinado pH.

#### Espicias.

Las especias se han utilizado como un condimento de alimentos para lograr efectos de sabor deseados. El nivel de uso está -- en función del gusto. Cuando se extrapola a la industria una

fórmula que contenga especias, surgen problemas de que se presente una sobredosificación de éstas haciendo que el producto pierda el sabor propio del alimento y sepa a especia, como — por ejemplo los platillos hechos a base de carne.

Se debe tomar en cuenta que la especia solo debe incrementar el sabor del alimento principal y no subsituirlo. Existen casos en que se utilizan las especias para imponer un sabor nuevo, pero estos casos son limitados.

El término especia se refiere a productos aromáticos tropicales que son las especias verdaderas entre estas están: nuez moscada, pimienta, canela y clavo. Posteriormente se produjeron mezclas en polvo como los chiles en polvo y el curry que es una mezcla de cardamomo, pimienta, cúrcuma, comino, y vinagre, se usa para sazonar carnes.

#### Aplicaciones de las Especias.

Las especias tienen aplicación en la producción de los siguientes alimentos:

- a) confitería: menta, yerbabuena, anís, canela.
- b) carnes frías: pimienta, azafrán, orégano, pimentón, laurel, mejorana, mostaza, clavo, comino, canela.
- c) productos vegetales: apio, cebolla.
- d) salsas: chile, apio, cebolla, orégano, tomillo.
- e) pastas: jengibre, nuez moscada, canela.

#### Mejoradores de Sabor.

Tienen por objeto mejorar el sabor de los alimentos a los que se adicionan, se dividen en dos grupos:

- a) los que mejoran integralmente el sabor de un alimento resaltando los sabores latentes. Dentro de estos están el glutamato monosódico (GMS), inosinato disódico y guanilato disódico.
- b) los que imparten un sabor definido como los hidrolizados de

proteínas tanto de levaduras como de vegetales. Estos reciben el nombre de sabores de carne ya que ciertas dosis pueden producirlo. Se emplean cuando es necesario abatir el costo de -- producción y disminuir el precio del producto que requiere sa bor a carne, en dosis bajas mejoran el sabor y a altas dosis imparten sabor a carne.

#### Ventajas del uso de Hidrolizados de Proteínas Vegetales.

- a) permiten reemplazar la carne y el extracto de carne en la fabricación de alimentos.
- b) restauran el sabor carne a alimentos procesados, sobre todo en productos de carne de res.
- c) pueden conservarse por mucho tiempo sin pérdida del sabor ni descomposición.

#### Colorantes Naturales y Artificiales.

El color es un constituyente vital de los alimentos. Los colo rantes naturales, pueden considerarse en principio como no tó xicos y asimilables por el organismo humano.

Los colorantes sintéticos que pertenecen al grupo de los dia-zo compuestos son los utilizados como colorantes de alimentos.

Los colorantes artificiales han sido considerados particularmente como peligrosos, debido a que pertenecen al grupo del -alquitrán.

Estos compuestos han sido considerados como posibles fuentes del cáncer, debido a que unos derivados del alquitrán han sido capaces de inducir tumores cancerosos en animales de laborato rio.

#### Fijadores de Color.

Un alimento procesado, debido al tratamiento al que se le so-

mete tiende a perder algunas de sus características organolépticas como apariencia y color natural. Para contrarrestar este efecto, se emplea un grupo de aditivos llamados fijadores de color, empleados especialmente en la fabricación de embutidos, con el objeto de mantener el color rojo de la carne curada por un período aceptable, se pueden emplear solos o mezclados con antioxidantes.

Como se sabe las características organolépticas de los productos cárnicos, tienden a alterarse con el contacto del aire y con el  $O_2$  presente en los tejidos. Estas alteraciones se deben a agentes internos o externos como temperatura, luz, humedad, etc.

Entre los fijadores de color más usados están:

a) ácido ascórbico y sus derivados. El color rojo de la carne, se produce por la acción del óxido nítrico con la mioglobina (pigmento de la carne), y formar el compuesto nitroso-mioglobina. La presencia de este ácido agiliza la reacción de descomposición del  $NO_2$  en óxido nítrico. Después del curado, el ácido restante actúa como antioxidante.

El ácido ascórbico y sus derivados se emplean en embutidos durante el ahumado y cocimiento en dosis de 20 a 50 gramos por cada 100 Kg de carne.

### Ventajas.

- a) reacciona con el  $O_2$  del aire evitando que se afecten los pigmentos de la carne que producen decoloración, los más comunes gris y verde debido a la presencia de porfirinas.
- b) reducen todo pigmento café dando el color de carne curada que se desea.
- c) absorben el aire, cuyos componentes destruyen los elementos del sabor.

### Limitaciones.

- a) no intensifican el color de la carne.
- b) no son bacteriostáticos.
- c) no impiden la descomposición de los productos.
- d) el ácido se destruye en presencia de metales pesados (Cu, - Fe), por lo que no opera en recipientes hechos con estos metales.

b) ácido cítrico. Este ácido combinado con el ascórbico y sus sales, inactiva ciertas enzimas naturales y actúa como secuestrante de metales, refuerza la acción fijadora del color en carnes procesadas.

c) palmitato de ascorbilo. Es el éster palmítico soluble del ácido ascórbico, se emplea para estabilizar grasas y aceites como antioxidantes, así como en embutidos y fiambres con un contenido alto de grasas para fijar el color. Las dosis permitidas son 0.060 g/Kg (60 ppm) de grasa utilizada.

### Conservadores.

Son aquellas sustancias capaces de prevenir, retardar o detener el proceso de fermentación, putrefacción o otra alteración de comestibles y bebidas, condicionadas por enzimas o microorganismos.

### Requisitos para el uso de los conservadores.

- a) prolongar la vida del alimento.
- b) no debe ser tóxico.
- c) no debe impartir sabor, color, textura extraña, cuando se usen en los niveles requeridos.
- d) debe ser fácilmente soluble.
- e) debe presentar propiedades antimicrobianas en el rango de pH del alimento en que se usa.

f) debe ser económico y práctico de usar.

Preservativos de Uso Común.

- a) ácido benzoico y su sal sódica.
- b) ácido propiónico y sus sales.
- c) ácido sórbico y sus sales.
- d) anhídrido sulfuroso, ácido sulfuroso y sus sales.
- e) difenilo.
- f) urotropina.
- g) antibióticos.

Está bien establecido que nitratos y nitritos son comunmente usados en la fabricación de carne curada y procesada para el desarrollo del color, cualidades organolépticas y control de botulismo. Durante la investigación sobre el uso del nitrito como un agente curante en carne, el término "nitrito residual" ocupa un papel de importancia considerable, ya que el mismo es la cantidad de nitrito corriente que puede ser detectado por metodología analítica en un producto de carne. El nitrito residual en carne curada ofrece algo tangible de considerar --- cuando el equilibrio entre los aditivos alimenticios repercute en la salud humana.

En los Estados Unidos las regulaciones federales establecen sobre el uso del nitrito lo siguiente: No más de 200 ppm de nitrito residual pueden estar presentes en el producto final en el uso de nitratos solos o en combinación con nitritos. En México las autoridades sanitarias tienen establecido los mismos límites que se emplean en los Estados Unidos los cuales se basan en los límites que establece la FDA.

Los nitratos pueden ser reducidos a nitritos por microorganismos en alimentos en el tracto gastrointestinal animal y humano, o por enzimas en tejidos animales. El nitrato puede ser reducido en carnes por reacciones estrictamente químicas. El

nitrato de sodio es absorbido lentamente desde el tracto gastrointestinal de perros y conejos; en ambos casos es excretado principalmente en la orina más que en las heces.

De cualquier modo, los nitratos ejercen efecto antimicrobial significativo en alimentos dañados en su producción, o en alimentos envenenados por microorganismos.

Los nitratos y nitritos pasan por reacciones de reducción para formar óxido nítrico que se combinará con la mioglobina -- para formar la nitrosomioglobina y con la hemoglobina para -- formar la nitrohemoglobina, o con agua para formar ácido nitroso.

El nitrito (en la forma de ácido nitroso) se combina con la hemoglobina y da la miohemoglobina, y con el pigmento de mioglobina en la carne para dar el típico color rosa de la carne curada. El nitrito reacciona con el ácido ascórbico, con quinonas y con fenoles tales como la tirosina; también reacciona con la pepsina y reduce su actividad.

Los nitritos son absorbidos del tracto gastrointestinal más rápido que los nitratos. El nitrito dietético disminuye la -- asimilación de grasas pero no de carbohidratos y retardan el tiempo de vaciado del tracto. Un efecto hipotensivo es ejercido por los nitritos a través de la vasodilatación. Con los -- eritrocitos humanos el nitrito de sodio causa la destrucción de hemoglobina y pérdida de la integridad osmótica.

El Clostridium botulinum es inhibido por el nitrito bajo las condiciones usadas en carnes curadas; la concentración inhibitoria depende del tipo y esfuerzo del número de células vegetativas o esporas presentes; pH, temperatura, calentamiento anterior del nitrito, y de la concentración de cloruro de sodio. Efectos similares se observan con Clostridium sporogenes.

El crecimiento de Staphylococcus aureus es inhibido por el nitrito a concentraciones usadas en carnes curadas bajo condiciones ácidas de pH. De cualquier modo la producción de enterotoxina A estafilococal o enterotoxina B no es inhibida por el nitrito.

Los nitratos pueden ser determinados en alimentos por el Método Oficial de la A.O.A.C. del m-xilenol, por el Procedimiento de la Brucina, o por Reducción de Nitratos a Nitritos calculando el contenido de nitratos por diferencia entre el nitrato determinado antes y después de la reducción.

Los métodos para determinar nitritos en alimentos, están basados en la diazotización del nitrito con el ácido 4 aminobenzensulfónico o la amida seguido por la copulación con la 1-naftilamina o la N,N dimetil-1-naftilamina y determinación espectrofotométrica del color azo formado.

Quando el nitrito es añadido a la carne, un análisis inmediato muestra que arriba del 50% de nitrito no puede ser recuperado. Este desaparece más rápidamente con calentamiento y declina también durante el almacenamiento; la mayor parte de los resultados indica que inmediatamente después de la formulación aproximadamente el 50% a 75% del nitrito original añadido puede ser medido por procedimientos analíticos. Subsecuentes procedimientos térmicos dan como resultado una pérdida de nitrito adicional menor del 20 a 80%, y esta disminución continúa durante el almacenamiento. La mayor parte de carnes curadas, por consiguiente, contienen un nivel de nitrito residual entre 10 y 50 ppm.

Existen puntos de vista diferentes de los niveles de nitrito residual. Uno de los niveles representa un conocimiento y una moderada absorción del nitrito y, por consiguiente, debe ser considerado de consecuencia para la salud humana. La concentración de nitrito en la saliva humana es tal, que la pérdida

de 6 a 12 miligramos de nitrito por día es posible tan solo - del deglutamiento de nuestra propia saliva. Para consumir 6 - miligramos de nitrito, una persona tendría que comer 1/4 de - libra de carne curada con un nivel de nitrito residual de 50 ppm.

Lógicamente, el nitrito debe ser convertido a otras formas las cuales pueden perderse o permanecer en el producto, de este modo, el conocimiento acerca de los productos de reacción formados del nitrito y los constituyentes de la carne es mínimo, como la importancia e información acerca de la cantidad de nitrito añadido para que el curado permanezca después del procesamiento.

### Reacciones del Nitrito.

1. Reacción con Mioglobina. Una reacción bien establecida es la combinación del nitrito con el pigmento muscular mioglobina para formar la nitrosilmioglobina. Los cálculos de tipos promedios revelan que en una mol de base molar, la mioglobina de la carne está ligada aproximadamente con 15 ppm de nitrito. Este puede reaccionar con otros pigmentos que contengan porfirina tales como los citocromos y la hemoglobina, pero la cantidad de estos compuestos presentes en el músculo generalmente es pequeña comparada con el contenido de mioglobina. Considerando también la hipótesis de que el pigmento cocido tiene la capacidad de unir dos equivalentes de nitrito en lugar de uno, parece una suposición cierta. Por consiguiente entre el 10 y 20% del nitrito añadido para el curado reacciona con compuestos que contienen porfirina en la carne.

2. Formación del Nitrato. En productos de carne donde se añade nitrito es frecuente observar la formación del nitrato, como en el caso del tocino formulado sin nitrato, la concentración fué alta debido a la alta concentración del nitrito empleado. Una oxidación simultánea del nitrito a nitrato cuando

el  $\text{Fe}^{2+}$  en oximioglobina es oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$  ha sido reportado.

El nitrito también puede sufrir una auto-oxidación, resultando la formación de nitrato y óxido nítrico.

3. Producción de Gases. El potencial de pérdida de nitrito - a través de la formación y producción de gases durante el curado es cierto. La reacción de Van Slyke que consiste en la combinación del ácido nitroso con un grupo amino para producir nitrógeno, siendo importante esta reacción porque depende del pH y la temperatura. La reacción ocurre más rápidamente bajo condiciones ácidas y temperaturas elevadas donde una amplia proporción del nitrito está en forma disociada.

La formación de óxido nítrico ( $\text{NO}_3$ ) a partir del nitrito o ácido nitroso, es la llave de la química del curado, donde el óxido nítrico es el componente activo para la formación del color en el curado. Los factores que controlan la producción de óxido nítrico y las reacciones que sufre una vez formado, probablemente determinan el nivel de nitrito residual.

El óxido nítrico puede ser oxidado a dióxido de nitrógeno y dar un gas. El alcance de esta reacción está probablemente controlada por el contenido de oxígeno en los sistemas de la carne, el cual es bajo en el interior de amplios cortes de la misma. Además, los esfuerzos están hechos a minimizar la incorporación de oxígeno durante la preparación de productos molidos.

Esto es claro desde la formación de los dos gases, el óxido nitroso y el óxido nítrico están ambos formados de nitrito incubado en la presencia de un producto molido.

El óxido nítrico, óxido nitroso, y el nitrito han sido encontrados en los productos del gas principal en carne calentada.

La producción y formación del óxido nítrico, óxido nitroso y nitrógeno, por reacción del nitrito con el sistema de la carne puede contarse por pérdida de nitrito. Otros trabajos establecen al óxido nítrico como el mayor producto gaseoso de la interacción del nitrito con la carne. De cualquier modo, no todo el óxido nítrico necesariamente se pierde del producto como un gas; algo puede permanecer en el mismo, en combinación con un constituyente de la carne o con un agente reductor añadido.

4. Papel de los Grupos Sulfidrílicos. En el rango de pH de 2 a 3, una reacción ocurre entre el nitrito y la proteína llamada cisteína, con la consiguiente formación de la s-nitrosocisteína. También ha sido demostrado que el nitrito puede combinarse con grupos sulfidrilos en carne y formar los nitrosotioles por la vía de unión a proteínas. Los cálculos muestran que el contenido de sulfidrilo en carne (más o menos 20 milimoles por Kg) es 10 veces más grande que la cantidad de nitrito añadido en una mol de base molar y entonces, teóricamente podía contar por pérdida de todo el nitrito. Además los nitrosotioles una vez formados pueden sufrir una reacción de reducción, resultando un disulfuro y la liberación de óxido nítrico. Esta secuencia de reacción fué postulada para producir una forma de nitrito activado; el óxido nítrico entonces formado, puede fácilmente tomar parte en otras reacciones.

Análisis de carne cruda y porciones de carne curada insolubles en agua, mostraron que arriba del 25% del nitrito añadido había reaccionado para formar los nitrosotioles. La cantidad de nitrosotioles formados fué igual con respecto al incremento de la concentración del nitrito añadido en muestra cruda.

La importancia de la formación del nitrosotiol por pérdida de nitritos fué calculada utilizando la proteína llamada miocina, la cual fué tratada con nitrito bajo varias condiciones: aplicando altas temperaturas, altas concentraciones de nitrito y

pH bajo, fué posible hacer reaccionar todos los grupos sulfidrilos en pocos minutos.

Considerando la concentración de nitrito, pH, y condiciones de temperatura usualmente empleadas en un producto de carne, se concluye que la reacción directa entre el nitrito y los grupos sulfidrilos en la proteína llamada miocina, es responsable para una pequeña proporción solamente de la pérdida total de nitrito en el proceso de curado.

La función de los grupos sulfidrilos en la pérdida de nitrito fué investigada bloqueando los grupos sulfidrilos con el reactivo alkilante N-etil-maleimida. Este procedimiento suprimió la producción de nitrito, pero no a tal punto que pudiera sugerir que los grupos sulfidrilos juegan un papel importante. En trabajos subsecuentes, la pequeña cantidad de ácido ascórbico endógeno en carne, se pensó que jugaba un papel importante en el mecanismo de producción del nitrito, actuando como un electrón acarreador durante la reducción del nitrito por los grupos sulfidrilos de las proteínas de la carne. La importancia de rastrear iones metálicos como agentes electrónicos de transferencia también fué considerada.

Finalmente las propiedades antibacteriales de los nitrosotioles pueden ser mencionadas: recientemente la nitrosotiol-cisteína ha demostrado tener un efecto microbiológico inhibitorio definido tan grande como el del nitrito mismo.

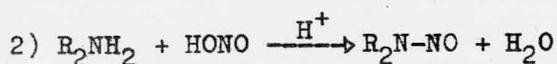
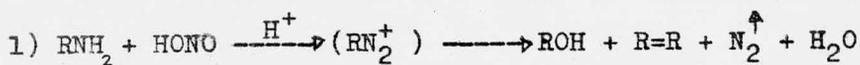
5. Papel de la Mitocondria. Un papel distinto es sugerido para la mitocondria en el mecanismo de curado. El nitrito es reducido por la mitocondria muscular cuando un producto de la reacción es el nitrosilferricitocromo c. Cuando la incubación de este, la metiomioglobina, la mitocondria muscular y la desoxigenasa reducida son manejadas a una atmósfera de nitrógeno y el resultado es la formación del ferrocitocromo c y un equivalente estequiométrico de la nitrosilmioglobina con la

nitrosilmetiomioglobina como un intermediario.

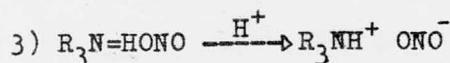
6. Otras Reacciones. Entre estas se encuentran la interacción del nitrito con reductores tales como el ascorbato, el que es añadido en el curado o puede encontrarse endógenamente en pequeñas cantidades en la carne.

También se ha estudiado el efecto de los iones metálicos y de algunos compuestos endógenos de bajo peso molecular, en la formación del color en carne curada. El  $\text{Fe}^{++}$  descompone significativamente al nitrito en ausencia de ascorbato, pero en presencia de éste,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$ , y  $\text{Zn}^{++}$  así como  $\text{Fe}^{++}$  y  $\text{Fe}^{+++}$  aumentan la descomposición del nitrito.

Hace 5 años, la palabra nitrosamina era algo que habíamos oído en clase de Química Orgánica, el clásico ejemplo señalaba que la clase de compuestos llamados aminas (Primaria  $1^\circ$ , Secundaria  $2^\circ$ , Terciaria  $3^\circ$ ) reaccionaban con ciertos compuestos tales como el ácido nitroso para formar otras sustancias tales como:



Nitrosamina  $2^\circ$



Nitrosamina  $3^\circ$

El nitrito reacciona con aminas secundarias y terciarias formando las N-nitrosaminas. Los métodos analíticos para detectar nitrosaminas en alimentos están basados principalmente en cromatografía gas-liquido acoplado con espectroscopía de masas. De cualquier modo, esta técnica es solamente semicuantitativa con los bajos niveles de N-nitrosaminas detectadas en alimentos.

Las N-nitrosaminas son conocidos carcinogénicos y se han formado experimentalmente en tractos gastrointestinales de ratones, ratas, conejos y humanos por administración simultánea de nitritos y aminos secundarias.

La pirólisis de proteínas durante el cocido podría producir aminoácidos tales como hidroxiprolina, prolina, arginina, lisina, etc. También algunas aminos secundarias podrían formarse de compuestos como la cadaverina y putrecina que son lisina y ornitina descarboxiladas respectivamente, como se muestra en las figuras 2,3,4.

Similarmente la prolina o hidroxiprolina en alimentos podrían combinarse con ácido nitroso en el estómago y producir la nitrosoprolina que posiblemente pueda ser descarboxilada en las condiciones básicas del pequeño intestino para producir nitrosopirrolidina, un derivado nitrosaminado que se supone ser un extremadamente carcinógeno.

La verdadera controversia relacionada a las nitrosaminas y la industria de la carne empezó hace algunos años cuando la muerte de algunos animales en el Norte de Europa fueron investigados por comer harina de pescado. Esta harina en particular había sido fuertemente nitrada, y los animales murieron por comerla. Como resultado de este incidente fueron identificados ciertos compuestos en la harina de pescado que ahora clasificamos como nitrosaminas. No se tardó mucho en encontrar que algunas de estas fueran carcinogénicas, y ciertos compuestos de estos producían cáncer en animales de prueba. Sin embargo, no se ha detectado cáncer en humanos como resultado de las nitrosaminas, por haber marcadas diferencias entre especies de animales relativas a la conducta biológica de extraños compuestos.

Un compuesto carcinogénico es capaz de producir tumores en cualquier especie de prueba, por cualquier camino o ruta, y a cualquier nivel de dosis. Este término incluye materiales --

Figura 2.

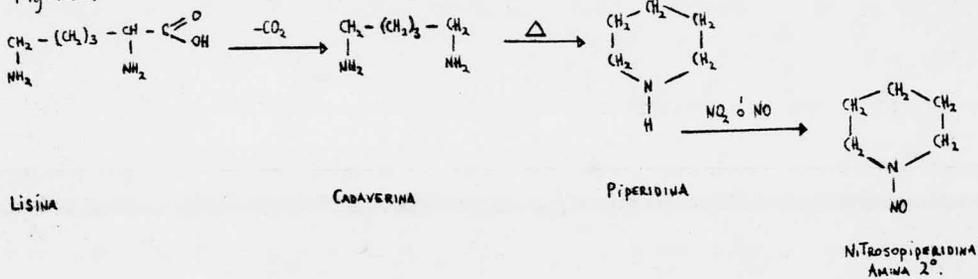


Figura 3.

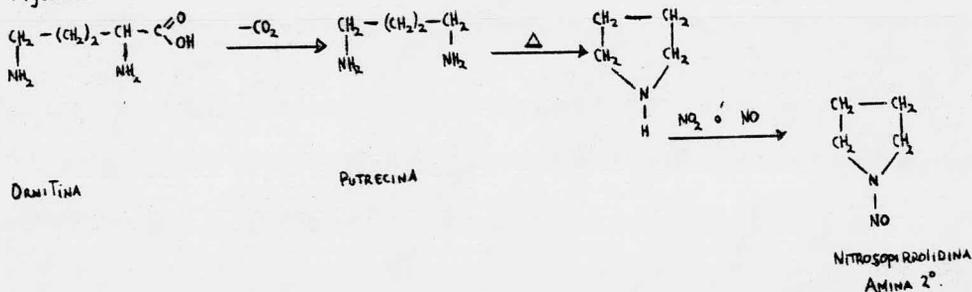


Figura 4.

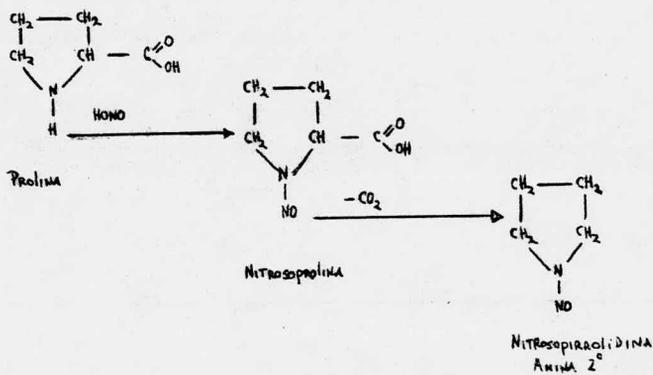
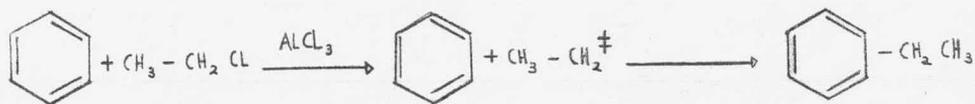


FIGURA 5. LA REACCION DE FRIEDEL-CRAFTS ILUSTRAL EL PROCESO DE ALKILACION.



inertes tales como el oro, plata, cloruro de sodio, o plásticos (que pueden causar el cáncer por irritación localizada), - pero en general se refiere a los carcinógenos más ampliamente reconocidos en esta lista:

### Químicos

Hidrocarburos aromáticos y aminas  
 Compuestos de anillo aromático heterocíclico  
 Oxido de 4-nitroquinolina  
 Nitrosaminas  
 Compuestos Azo  
 Agentes Alkilantes  
 Uretanos  
 Polímeros

### Físicos

Radiaciones Ionizantes  
 Radiaciones Ultravioleta  
 Abrasivos

### Otros

Anormalidades Cromosómicas  
 Virus

Las nitrosaminas son agentes alquilantes. La reacción de Friedel-Crafts se usa para ilustrar el proceso de alquilación (Fig. 5).

El mecanismo molecular de la inducción del cáncer o tumor está principalmente incorporada en teorías tentativas. Sin embargo, en sistemas biológicos, las nitrosaminas pueden proporcionar - grupos alquil activados ( $R^+$ ) como se muestra en la Fig. 6. Es tos grupos posiblemente puedan alquilar la posición 7-N de ---

la porción guanina de la molécula de DNA en el residuo de la guanina contrapuesta. Sin embargo, los agentes alquilantes no son fuertes carcinógenos. Las Figs. 7 y 8 ilustran las hipótesis de que el grupo  $R_+^+$  de una nitrosamina podría formar un puente entre dos residuos de guanina del DNA.

Es además teórico que esto posiblemente pueda causar anormal replicación o función del DNA y subsecuentemente causar crecimiento de un tumor. Empero, esto es todavía teórico y la evidencia que se ha encontrado ha sido en animales de prueba y se ha interpolado estos datos a los humanos. La extrapolación de datos de una especie a otra es riesgoso y debe evitarse en lo posible.

La posible relación de las carnes curadas con el cáncer humano llegó a la conciencia pública en 1970 en un artículo intituado "Nitrosaminas como Carcinógenos Ambientales". Un encabezado decía: "El cáncer humano puede ser causado por nitrosaminas formadas en el cuerpo, de nitritos digeridos y aminas secundarias. El cocido puede ser la fuente de estas aminas secundarias". Esto fué uno de los postulados originales sobre este tema y ha creado considerable preocupación entre el público y la comunidad científica.

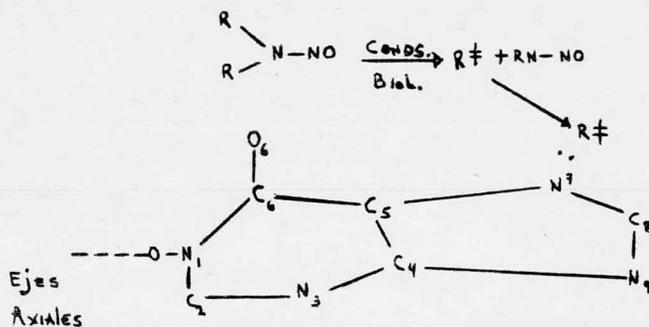
Más específicamente dirigiendo el problema de las nitrosaminas en carnes curadas y procesadas, ha habido una preocupación considerable acerca de la presencia o posible presencia de nitrosaminas así como de nitratos y nitritos residuales en carne curada.

Un dato importante ha sido el amplio número de reportes positivos de nitrosaminas volátiles en alimentos curados. El camino para la formación está todavía bajo consideración, sin embargo, la nitrosoprolina es un precursor posible de la nitrosopirrolidina en tocino ahumado.

Si de hecho, estos compuestos nitratos, nitritos, y aminas ---

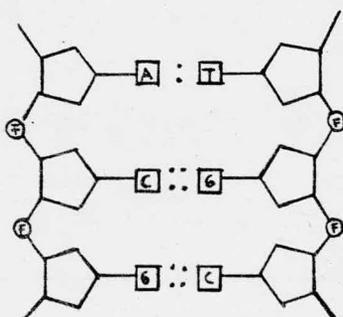
FIGURA 6.

EN SISTEMAS BIOLÓGICOS LAS NITROSAMINAS PUEDEN PROPORCIONAR GRUPOS  
 ALKIL ACTIVADOS. (R ≠).

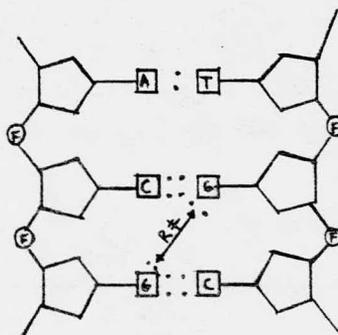


FIGURAS 7 y 8.

Replicación NORMAL DNA



Replicación ANORMAL DNA



EL GRUPO  $\text{R}\ddagger$  DE NITROSAMINAS PROBABLEMENTE PUEDE FORMAR UN PUNTE  
 ENTRE DOS RESIDUOS DE GUANINA DE DNA.

reaccionan juntos formando nitrosaminas en el estómago y tracto intestinal de humanos, vamos a tener nitrosaminas presentes en nuestros sistemas sea que eliminemos nitratos y nitritos de las frutas, vegetales, y carnes que consumimos, así como del agua potable, tendríamos una pequeña dificultad el problema de empezar a eliminar la saliva producida en nuestros propios cuerpos.

Tendríamos que eliminar también proteínas, aminos, aminoácidos, etc, de nuestra dieta para prevenir la posibilidad de nitración de aminos de nuestra saliva que contiene nitritos.

La situación de las nitrosaminas parece que se puede controlar con una pequeña eliminación de nitratos y nitritos de carnes curadas y procesadas. Recientes investigaciones indican que el ácido ascórbico o eriotorbato pueden posiblemente proporcionar las condiciones requeridas, y prevenir la formación de nitrosaminas en carne curada.

El mayor problema en la industria de la carne es la posibilidad de que tanto el nitrato como el nitrito fueran eliminados de la lista de aceptables para el uso de productos manufacturados de carne.

= = = = =

= = = = =

= = = =

## II) PROCEDIMIENTO UTILIZADO PARA CUANTIFICACION.

De los diversos métodos empleados para cuantificación de nitratos y nitritos en embutidos, entre los que se encuentran los Métodos de Análisis de la A.O.A.C., el Método modificado de Brucina de D. Mac Dougall y F.E. Roadhouse, la Determinación de M.J. Follett y P.W. Ratcliff, la Determinación con ayuda de una reacción mixta de novocaína y thymol del Dr. Lichtenberg, y la Norma Oficial de Método de Prueba para la determinación de Nitritos en Carnes Curadas, D.G.N. F-97- 1965, se eligieron estos dos últimos métodos para esta cuantificación por ser los más rápidos y accesibles en cuanto a material de laboratorio y reactivos para llevar a cabo este trabajo, además de que los resultados que se obtienen con estos métodos tanto de nitratos como de nitritos, son más exactos que los que se obtienen con los métodos tradicionales.

Antes de exponer los fundamentos de los dos métodos elegidos, cabe hacer la aclaración de que ambos sufrieron modificaciones para poder adaptarlas al trabajo hecho en el laboratorio.

Las modificaciones que se efectuaron a la determinación de nitritos por una reacción mixta de novocaína y thymol fueron:

- a) para la preparación de la muestra no se siguió el método de extracción de esta determinación sino el de la Norma Oficial, pues se obtenían filtrados más claros con esta extracción.
- b) después de agregar todos los reactivos no se obtenía el color deseado, por lo que se procedió a variar las cantidades de los reactivos uno por uno, para saber si en eso consistía. Después de varias pruebas en las que las cantidades de los reactivos eran ya demasiado grandes, se procedió a hacer la prueba de tomar una alícuota de la solución problema y antes de añadir cualquiera de los reactivos se agregó 4 ml de ácido

clorhídrico (HCl) 1N y después los demás reactivos dando inmediatamente el color deseado, con esta prueba se modificaron las cantidades de los demás reactivos quedando de la manera siguiente: primero la alícuota determinada, luego 4 ml de ácido clorhídrico 1N, 1 ml de novocaína, 1 ml de solución alcohólica de thymol, y 1 ml de sosa cáustica al 40%.

c) en ambas determinaciones tanto de nitratos como de nitritos, para realizar el trabajo más rápido y con mayor exactitud, tanto de las alícuotas como de los reactivos, de cada uno de ellos se tomó la cuarta parte, aforándose a 25 ml.

d) los cálculos para la determinación de nitritos por la reacción de novocaína y thymol se hicieron con las mismas condiciones establecidas en la Norma Oficial de Método de Prueba para la determinación de Nitritos en Carnes Curadas. D.G.N. - F-97-1965.

e) el método de la misma para determinar nitritos fué adaptada para la determinación de nitratos.

Hechas las aclaraciones se expondrán los fundamentos de los métodos elegidos.

#### NUEVO PROCEDIMIENTO

La determinación de pequeños contenidos de Nitritos en los Alimentos y en los tejidos, con ayuda de una reacción mixta de novocaína y thymol.

por

el Dr. Heinz Lichtenberg.

Oficina local de lo criminal de la Baja Sajonia, Hannover.

Con un método modificado cuyo principio para la determinación de procaína se dió a conocer antes, por Soehring, Frey, y --- Schultz, se pudo, cambiando el objetivo del método, obtener --

una nueva forma sensible de trabajo para determinar cantidades chicas de nitrito en materias orgánicas.

El principio del nuevo método para la determinación de nitrito, consiste en que en la solución final se usa hidrocloreuro de procaína en solución acuosa la que se diazotiza con una solución alcohólica de Thymol. Cuando hay nitrito se forma una materia colorante azoica de color rojo, con la solución alcohólica de Thymol. La medición de los máximos y de los mínimos de absorción condujo al resultado de que el cuerpo colorante formado tiene su máximo de absorción a 450 m $\mu$  y su mínimo de absorción de 715 a 720 m $\mu$ .

Las mediciones se llevaron a cabo con ayuda de un fotómetro espectral de Zeiss, cuyo uso tiene la ventaja de que puede abarcarse un gran rendimiento de cantidades de colorante cuyo valor equivalente en nitrito sea del orden de magnitud de 1  $\gamma$ /ml.

El método de trabajo consiste en que se reducen a polvo fino de 1.5 a 20 gramos del tejido o la salchicha. Es apropiado para ello el uso de un Starmix. La pasta así obtenida se filtra y se centrifuga. La solución aforada a 50 ml, se diluye con 3 a 5 ml de ácido tricloroacético por cada clara de huevo contenida, se agita otros 5' y se pasa a través de un filtro duro. Con ello se precipitan las materias de la clara de huevo.

Por lo general, los filtrados se vuelven claros, con una centrifugación constante, y cuando sea necesario, una extracción adicional con éter, se puede alcanzar mayor claridad de los filtrados.

Se diluye con 2 ml de una n-NCL y se filtra de nuevo. Se agrega una solución de novocaína (procaína, 500 mg de hidrocloreuro de novocaína en 100 ml de agua destilada). Después de otros 3' en los que se debe sacudir intensamente y enfriar lo más -

posible (no es estrictamente necesario un enfriamiento con hielo en la diazoterización), se añade 1 ml de una solución alcohólica de Thymol al 1.5% y 1 ml de sosa cáustica al 40% con una agitación lenta.

El color que aparezca amarillo en una concentración ligera, y rojo en una concentración más fuerte, se mide en el fotómetro espectral, con lo que se determina la extinción de las soluciones con distintas longitudes de onda y con ayuda de curvas de comparación de dichas soluciones, cuyo contenido de nitrito se sepa con exactitud, se determina la concentración buscada de nitrito.

Las soluciones reactivas usadas, no dan ninguna extinción propia. Especialmente la adición del ácido tricloroacético no perturba la formación del colorante.

Con el método arriba citado es posible comprobar los contenidos inaceptablemente altos de nitrito en las salchichas.

NORMA OFICIAL DE METODO DE PRUEBA  
PARA LA DETERMINACION DE "NITRITOS  
EN CARNES CURADAS" D.G.N. F-97-1965.

1. DEFINICION Y GENERALIDADES.

Definición.-

Se define como nitrito el anión que tiene por características de constitución, un átomo de nitrógeno y dos de oxígeno, de acción monovalente; cuyo símbolo químico es  $\text{NO}_2^-$ .

2. Método de Prueba.-

Esta Norma establece el método fotocolorimétrico, para la

determinación de nitritos. Las condiciones en ella establecidas, fijan su alcance y limitaciones, así como su campo de aplicación.

### 3. Generalidades.-

Por este método se determinan concentraciones de nitrito, con una aproximación de  $\pm 0.25\%$ , dependiendo esta aproximación de la exactitud con que se haga la prueba.

### 4. Fundamento.-

Este método se funda en la reacción colorida de los nitritos con el reactivo modificado de Griess.

### 5. Campo de Aplicación.-

Este método se aplica para determinaciones en carnes curadas.

### 6. CLASIFICACION Y ESPECIFICACIONES.

#### Clasificación.-

Esta Norma establece un solo método de prueba para la determinación de nitritos.

### 7. Especificaciones.

#### Equipo.-

Fotocolorímetro equipado, equipo común de laboratorio, reactivos, reactivo modificado de Griess.

#### Reactivo modificado de Griess.-

Disuelva 0.5 gramos de ácido sulfanílico en 150 ml de ácido acético al 15% V/V. Caliente 0.1 gramos de  $\alpha$ -naftilamina o 0.125 gramos del clorhidrato de  $\alpha$ -naftilamina en 20 ml de agua hasta disolución y vierta en caliente en la solución de ácido acético diluido. Mezcle las dos soluciones y guárdelas en frasco de color ámbar.

### Solución Patrón de Nitritos.-

Disuelva 1.1 gramos de nitrito de plata en agua libre de nitritos, precipite la plata con solución de cloruro de sodio, diluya a 1 litro, mezcle, y deje sedimentar. Diluya 100 ml a 1 litro, y enseguida afore 10 ml de esta solución a 1 litro, use en cada caso agua libre de nitritos. 1 ml de esta solución final equivale a 0.0001 mg de nitrógeno como nitrito.

### 8. METODO DE PRUEBA.

#### Procedimiento.-

Pese 5 gramos de muestra finamente dividida y mezclada, vacíela cuidadosamente en un vaso de precipitados de 50 ml, agregue 40 ml de agua libre de nitritos calentada previamente a 80° C, mezcle perfectamente con un agitador de vidrio, tenga cuidado de desmenuzar todos los grumos, transfiera a un matraz de 500 ml. Lave el vaso cuidadosamente con varias porciones de agua caliente, agregue las aguas del lavado al matraz. Lleve a 300 ml con agua caliente y durante 2 horas en baño de vapor, agitando ocasionalmente.

Agregue 5 ml de solución saturada de  $Hg Cl_2$  (Cloruro mercurico), mezcle, enfríe a temperatura ambiente y afore con agua libre de nitritos, agite perfectamente, filtre, tome una alícuota determinada y afore con agua libre de nitritos a 50 ml.

Añada 2 ml de reactivo, mezcle, deje reposar 1 hora para que desarrolle coloración. Transfiera una cantidad determinada de la solución al tubo del fotocolorímetro y lea la densidad óptica o la transmitancia a una longitud de onda de 520 milimicras, ajuste el aparato a 0 con un blanco que contenga 50 ml de agua (libre de nitritos), más 2 ml de reactivo.

La lectura obtenida se interpola en la curva tipo, desarro

llada de la siguiente manera: diluya volúmenes determinados de solución patrón de nitritos en matraces aforados de 50 ml y adicione a cada uno 2 ml del reactivo modificado de Griess, deje reposar 1 hora y tome las lecturas correspondientes; ajuste previamente el fotocolorímetro con blanco de agua libre de nitritos. Grafique microgramos de nitritos en las abscisas contra densidad óptica o por ciento de transmitancia en las ordenadas.

La curva standard es una línea recta que debe tener 5 mcg de nitrógeno como nitritos en la solución final.

#### 10. Resultados.-

Expresa en ppm la concentración de nitritos. Desarrolle - por duplicado cuando menos la serie de experiencias, estas no deben variar entre sí en  $\pm 0.5\%$ ; de ser así repita la prueba. El resultado será el producto de la media aritmética.

= = = = =  
 = = = = =  
 = = = = =

## III) ENUMERACION DE LOS EMBUTIDOS ANALIZADOS Y RESULTADOS.

Los embutidos que se analizaron fueron los siguientes:

Jamón Endiablado Marca Zwan. S.A.  
Jamón de Espaldilla Marca Atemajac. S.A.  
Jamón de Pierna Marca La Luz. S.A.  
Queso de Puerco Marca FUD. S.A.  
Salchichón estilo Viena Marca Herdez. S.A.  
Salchichón con Ajo Marca Delchef. S.A.  
Salami estilo Milano Marca Parma. S.A.  
Pastel de Pollo Marca KIR. S.A.  
Pate de Cerdo Marca Ibero-Mex. S.A.  
Pate de Cerdo Marca FUD. S.A.

La preparación de las muestras se hizo de acuerdo con el Método de extracción de la "Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de Nitritos en Carnes Curadas". D.G.N. F-97-1965. Así las cantidades de alícuotas originales eran de 20, 30, 35, 40, 45 y 50 ml y la cantidad de reactivo en el caso de la determinación de nitratos era de 2 ml.

Para la determinación de nitritos las cantidades de los reactivos eran de 4 ml para el ácido clorhídrico 1N, 1 ml para la novocaína, 1 ml para la solución alcohólica de Thymol, y 1 ml para la sosa cáustica al 40%.

Con el trabajo efectuado a la cuarta parte las cantidades de las alícuotas quedaron de la siguiente manera: 5, 7.5, 10, 11.2, y 12.5 ml, del Reactivo de Griess la cantidad quedó en .25 ml, -- iguales cantidades quedaron para el ácido clorhídrico 1N, para la novocaína, para la solución alcohólica de Thymol, y para la sosa cáustica al 40%.

Expuesto lo anterior estos fueron los resultados en las cuatro series de experiencias que se llevaron a cabo con las diferentes

muestras, mostrando primero los resultados de las determinaciones de nitritos en muestras de 5 gramos, y posteriormente las determinaciones de nitratos también en muestras de 5 gramos.

Jamón Endiablado Marca Zwan. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.02	.03	.03	.02
30 ml	.04	.04	.04	.04
35 ml	.05	.049	.05	.05
40 ml	.06	.06	.061	.06
45 ml	.068	.068	.069	.068
50 ml	.08	.08	.081	.081

Estas lecturas se interoplaron con la curva standard para obtener la concentración de nitritos en microgramos, los cuales se relacionan a los gramos que se emplearon en la muestra, este último dato se multiplicó por la dilución empleada o sea por 4.

Ejemplo: el cálculo para la primera lectura de 20 ml sería así:

$$\begin{array}{l} .2 \text{ gramos} \text{ ----- } .3 \text{ mcg} \\ 1 \text{ gramo} \text{ ----- } x \end{array} \quad x = 1.5 \text{ mcg/g} \times 4 = 6 \text{ ppm}$$

$$\text{mg/kg} = \text{mcg/g} = \text{ppm}$$

$$\frac{\text{mcg}}{1 \text{ g}} = \frac{\text{mcg}}{4 \text{ g}} =$$

Como se efectuaron 4 lecturas sería muy largo enumerar todos los cálculos, por lo que se reportará solo el promedio de las cuatro lecturas.

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	7.2 ppm

30 ml	7.3	ppm
35 ml	7.58	ppm
40 ml	8.05	ppm
45 ml	8.04	ppm
50 ml	8.4	ppm

Jamón de Espaldilla Marca Atemajac. S.A (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.20	.20	.21	.20
30 ml	.28	.31	.31	.29
35 ml	.30	.33	.306	.30
40 ml	.32	.35	.32	.32
45 ml	.332	.33	.33	.33
50 ml	.35	.34	.345	.35

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	54.8 ppm
30 ml	49.7 ppm
35 ml	46.4 ppm
40 ml	42.0 ppm
45 ml	38.4 ppm
50 ml	36.4 ppm

Jamón de Pierna Marca La Luz. S.A (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.095	.09	.099	.098
30 ml	.14	.138	.14	.141
35 ml	.177	.17	.17	.17
40 ml	.205	.20	.20	.20
45 ml	.222	.22	.22	.22

50 ml	.25	.249	.25	.25
-------	-----	------	-----	-----

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	24.85 ppm
30 ml	23.95 ppm
35 ml	25.11 ppm
40 ml	25.75 ppm
45 ml	22.93 ppm
50 ml	25.56 ppm

Queso de Puerco Marca FUD. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.14	.14	.14	.14
30 ml	.19	.19	.19	.19
35 ml	.249	.248	.249	.249
40 ml	.265	.266	.265	
45 ml	.27	.27	.27	.27
50 ml	.29	.29	.29	

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	36 ppm
30 ml	32.52 ppm
35 ml	36.45 ppm
40 ml	34.0 ppm
45 ml	30.72 ppm
50 ml	29.92 ppm

Salchichón estilo Viena Marca Herdez. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>
------------------	-----------------------------------

20 ml	.082	.082	.08	.07
30 ml	.132	.14	.13	.13
35 ml	.158	.16	.16	.158
40 ml	.188	.19	.185	.18
45 ml	.21	.212	.21	.21
50 ml	.23	.24	.235	.24

AlícuotasPromedio

20 ml	20.6 ppm
30 ml	22.86 ppm
35 ml	27.4 ppm
40 ml	23.75 ppm
45 ml	23.85 ppm
50 ml	24.12 ppm

Salchichón con Ajo Marca Delchef. S.A (5 gramos)

AlícuotasLecturas a 450 milimicras.

20 ml	.062	.063	.062	.062
30 ml	.079	.079	.08	.08
35 ml	.09	.089	.09	.09
40 ml	.09	.09	.09	.09
45 ml	.101	.101	.102	
50 ml	.105	.105	.105	

AlícuotasPromedio

20 ml	16.5 ppm
30 ml	13.98 ppm
35 ml	13.42 ppm
40 ml	11.80 ppm
45 ml	11.72 ppm
50 ml	10.88 ppm

## Salami estilo Milano Marca Parma. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.015	.014	.015	.015
30 ml	.02	.02	.021	.021
35 ml	.027	.028	.028	.028
40 ml	.03	.03	.03	.03
45 ml	.031	.03	.031	.031
50 ml	.04	.04	.04	.04

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	4.7 ppm
30 ml	4.6 ppm
35 ml	4.5 ppm
40 ml	4.2 ppm
45 ml	3.85 ppm
50 ml	4.32 ppm

## Pastel de Pollo Marca KIR. S.A. (5 Gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.03	.03	.029	.031
30 ml	.04	.04	.04	.04
35 ml	.051	.05	.05	.051
40 ml	.062	.061	.06	.06
45 ml	.067	.066	.066	.066
50 ml	.07	.07	.07	.08

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	8.4 ppm
30 ml	7.2 ppm
35 ml	7.76 ppm

40 ml	8.07 ppm
45 ml	7.8 ppm
50 ml	7.6 ppm

Pate de Cerdo Marca Ibero-Mex. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.04	.045	.039	.041
30 ml	.045	.045	.04	.044
35 ml	.06	.05	.05	.05
40 ml	.065	.07	.06	.06
45 ml	.078	.078	.07	.07
50 ml	.082	.08	.08	.082

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	11.3 ppm
30 ml	7.98 ppm
35 ml	8.1 ppm
40 ml	8.6 ppm
45 ml	8.86 ppm
50 ml	8.48 ppm

Pate de Cerdo Marca FUD. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 450 milimicras.</u>			
20 ml	.022	.02	.03	.032
30 ml	.03	.03	.032	.035
35 ml	.04	.042	.041	.044
40 ml	.06	.06	.06	.06
45 ml	.06	.061	.06	.061
50 ml	.06	.06	.062	.062

AlícuotasPromedio

20 ml	7.45	ppm
30 ml	5.9	ppm
35 ml	6.49	ppm
40 ml	8.0	ppm
45 ml	7.14	ppm
50 ml	6.48	ppm

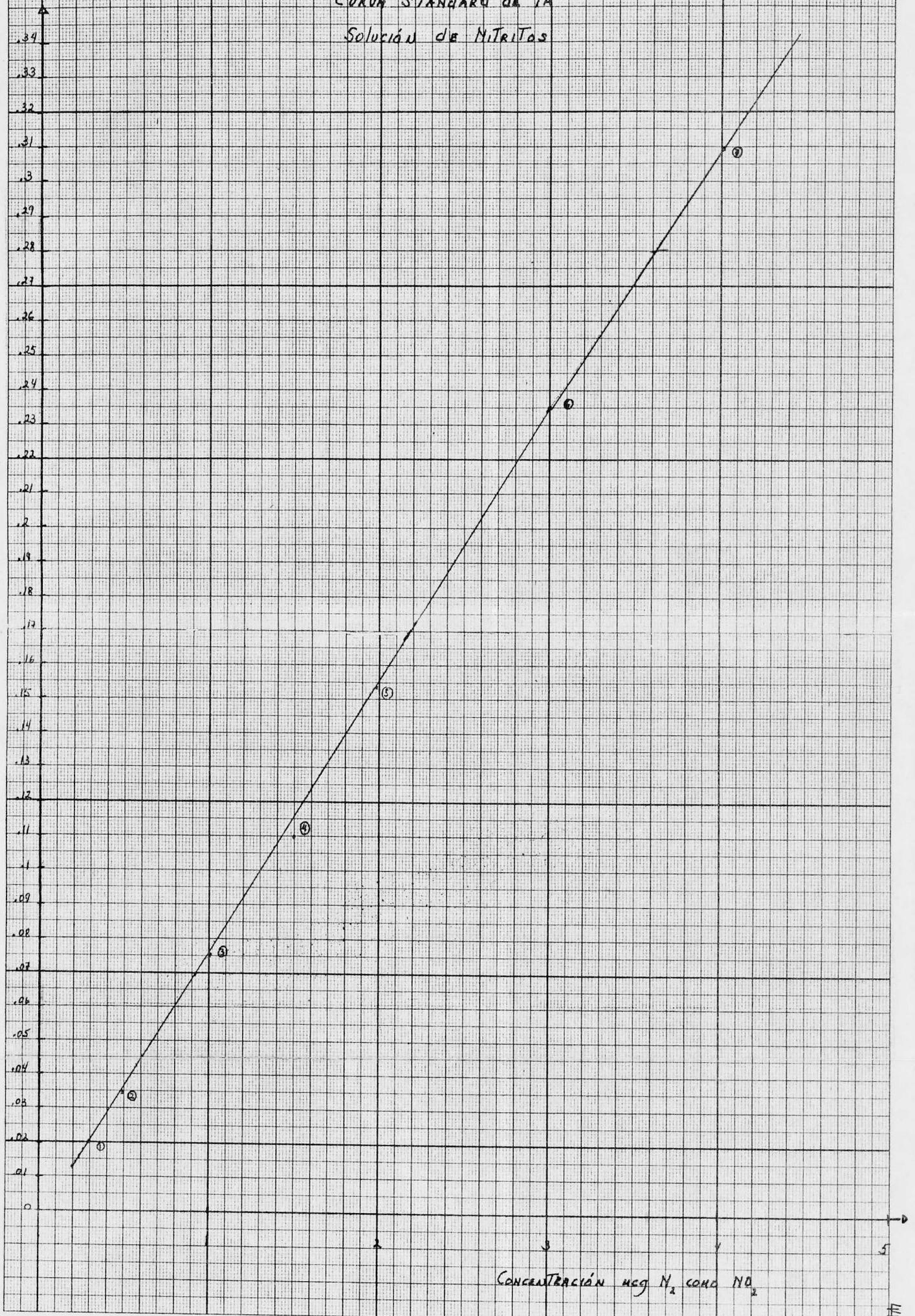
= = = = =  
= = = = =  
= = = = =

Lecturas de la Solución Standard de Nitritos.

<u>Concentración</u>	<u>meq.</u>	<u>Absorbancia a 450m<math>\mu</math></u>
0.3	3 ml	0.02
0.5	5 ml	0.035
1	10 ml	0.075
1.5	15 ml	0.1
2	20 ml	0.15
3	30 ml	0.235
4	40 ml	0.31

Absorbancia  
450 m $\mu$ .

CURVA STANDARD de LA  
Soluci3n de NITRITOS



N I T R A T O S

Jamón Endiablado Marca Zwan. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.04	.039	.04	.04
30 ml	.065	.065	.064	.065
35 ml	.08	.08	.08	.08
40 ml	.089	.089	.089	.09
45 ml	.1	.09	.1	.1
50 ml	.12	.11	.11	.11

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	13.1 ppm
30 ml	15.13 ppm
35 ml	16.17 ppm
40 ml	16 ppm
45 ml	15.73 ppm
50 ml	16 ppm

Jamón de Espaldilla Marca Atemajac. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.03	.035	.03	.03
30 ml	.05	.049	.05	.051
35 ml	.07	.059	-	-
40 ml	.07	.06	-	-
45 ml	.08	.08	.082	.085
50 ml	.082	.082	.085	.09

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	10 ppm

30 ml	11.46 ppm
35 ml	12.39 ppm
40 ml	15.53 ppm
45 ml	12.93 ppm
50 ml	12.12 ppm

Jamón de Pierna Marca La Luz. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.01	.01	.01	.01
30 ml	.03	.03	.03	.03
35 ml	.04	.042	.04	.042
40 ml	.049	.05	.05	.05
45 ml	.065	.065	.065	.06
50 ml	.07	.07	.07	.07

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	0.8 ppm
30 ml	6.4 ppm
35 ml	7.77 ppm
40 ml	8.55 ppm
45 ml	9.91 ppm
50 ml	9.92 ppm

Queso de Puerco Marca FUD. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.011	.011	.012	.012
30 ml	.02	.02	.02	.02
35 ml	.026	.025	.025	.025
40 ml	.028	.028	.029	.029
45 ml	.03	.03	.03	.03
50 ml	.038	.038	.038	.038

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	2.2 ppm
30 ml	3.73 ppm
35 ml	4.39 ppm
40 ml	4.6 ppm
45 ml	4.26 ppm
50 ml	4.96 ppm

Salchichón estilo Viena Marca Herdez. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.07	.06	.075	.072
30 ml	.12	.12	.12	.12
35 ml	.15	.15	.15	.15
40 ml	.17	.17	.18	.18
45 ml	.2	.2	.2	.2
50 ml	.23	.23	.23	.23

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	26.3 ppm
30 ml	24.8 ppm
35 ml	31.76 ppm
40 ml	32.7 ppm
45 ml	33.24 ppm
50 ml	34.72 ppm

Salchichón con Ajo Marca Deitchef. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.025	.024	.024	.024
30 ml	.035	.033	.033	.035
35 ml	.04	.04	.04	.04

40 ml	.05	.05	.05	.05
45 ml	.06	.06	.06	.06
50 ml	.07	.069	.07	.07

AlícuotasPromedio

20 ml	7.3	ppm
30 ml	7.19	ppm
35 ml	7.54	ppm
40 ml	8.6	ppm
45 ml	9.24	ppm
50 ml	9.84	ppm

Salami estilo Milano Marca Parma. S.A. (5 gramos)

AlícuotasLecturas a 520 milimicras.

20 ml	.01	.01	.01	.01
30 ml	.012	.012	.012	.011
35 ml	.015	.015	.015	.015
40 ml	.02	.02	.02	.02
45 ml	.022	.022	.022	.022
50 ml	.028	.028	.028	.027

AlícuotasPromedio

20 ml	0.8	ppm
30 ml	1.53	ppm
35 ml	1.88	ppm
40 ml	2.8	ppm
45 ml	2.84	ppm
50 ml	3.48	ppm

Pastel de Pollo Marca KIR. S.A. (5 gramos)

20 ml	.02	.021	.02	.021
30 ml	.03	.029	.03	.03
35 ml	.038	.038	.039	.038
40 ml	.042	.04	.042	.04
45 ml	.048	.048	.048	.048
50 ml	.05	.051	.051	.05

AlicuotasPromedio

20 ml	5.8	ppm
30 ml	6.26	ppm
35 ml	7.14	ppm
40 ml	6.8	ppm
45 ml	7.28	ppm
50 ml	6.96	ppm

Pate de Cardo Marca Ibero-Mex. S.A. (5 gramos)

AlicuotasLecturas a 520 milimicras.

20 ml	.05	.04	.05	.05
30 ml	.058	.06	.06	.059
35 ml	.08	.062	.078	.082
40 ml	.09	.09	.09	.092
45 ml	.098	.092	.095	.096
50 ml	.11	.11	.11	.11

AlicuotasPromedio

20 ml	16.2	ppm
30 ml	13.62	ppm
35 ml	15.34	ppm
40 ml	16.2	ppm
45 ml	15.33	ppm
50 ml	16.0	ppm

## Pate de Cerdo Marca FUD. S.A. (5 gramos)

<u>Alícuotas</u>	<u>Lecturas a 520 milimicras.</u>			
20 ml	.01	.027	.029	.03
30 ml	.03	.04	.045	.047
35 ml	.042	.042	.051	.055
40 ml	.058	.06	.065	.06
45 ml	.062	.065	.073	.08
50 ml	.07	.077	.08	.09

<u>Alícuotas</u>	<u>Promedio</u>
20 ml	7.1 ppm
30 ml	8.99 ppm
35 ml	9.19 ppm
40 ml	10.55 ppm
45 ml	10.99 ppm
50 ml	11.32 ppm

= = = = =

= = = = =

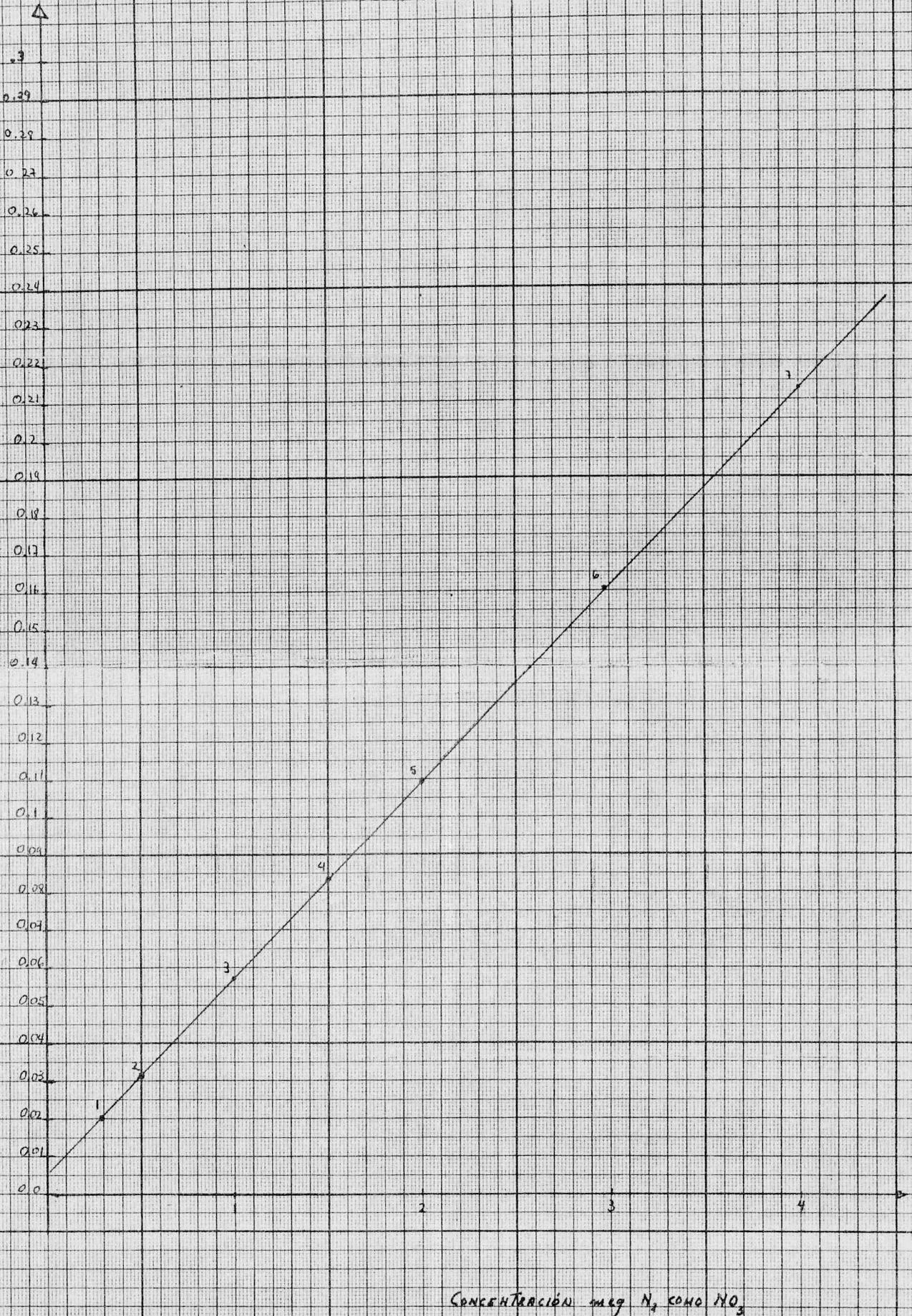
= = = = =

Lecturas de la Solución Standard de Nitratos.

<u>Concentración</u>	<u>meq.</u>	<u>Absorbancia a 520 m<math>\mu</math></u>
0.3	3 ml	0.02
0.5	5 ml	0.033
1	10 ml	0.051
1.5	15 ml	0.088
2	20 ml	.11
3	30 ml	.16
4	40 ml	.21

Absorbancia  
520 m $\mu$ .

Curva Standard de la  
Solución de NITRATOS.



## R E S U L T A D O S .

<u>Producto</u>	<u>Nitritos</u> <u>Alícuota</u>	<u>Nitratos</u> <u>Alícuota</u>	<u>Nitrito Residual</u>
Jamón Endia - blado Marca - Zwan S.A.	(20 ml) 7.2 ppm	(35 ml) 16.17 ppm	23.37 ppm
Jamón de Es - paldilla Mar- ca Atemajac - S.A.	(20 ml) 54.8 ppm	(20 ml) 10.0 ppm	64.8 ppm
Jamón de Pier na Marca La - Luz S.A.	(20 ml) 24.85 ppm	(45 ml) 9.91 ppm	34.76 ppm
Queso de Puer co Marca FUD- S.A.	(20 ml) 36.0 ppm	(35 ml) 4.39 ppm	40.39 ppm
Salchichón es tilo Viena -- Marca Herdez- S.A.	(40 ml) 23.75 ppm	(40 ml) 32.7 ppm	46.45 ppm
Salchichón -- con Ajo Marca Delchef S.A.	(20 ml) 16.5 ppm	(20 ml) 7.3 ppm	23.8 ppm
Salami estilo Milano Marca Parma S.A.	(20 ml) 4.7 ppm	(40 ml) 2.8 ppm	7.5 ppm

<u>Producto</u>	<u>Nitritos</u> <u>Alícuota</u>	<u>Nitratos</u> <u>Alícuota</u>	<u>Nitrito Residual</u>
Pastel de Po- llo Marca KIR S.A.	(20 ml) 8.4 ppm	(20 ml) 5.8 ppm	14.2 ppm
Pate de Cerdo Marca Ibero - Mex S.A.	(20 ml) 11.3 ppm	(20 ml) 16.2 ppm	27.5 ppm
Pate de Cerdo Marca FUD S.A.	(20 ml) 7.45 ppm	(40 ml) 10.55 ppm	18.0 ppm

=====  
=====  
=====

## IV) CONCLUSIONES.

1a). Se aplicaron los procedimientos de la Norma Oficial de Método de Prueba para la determinación de " Nitritos en Carnes Curadas". D.G.N. F-97-1965., y La Determinación de pequeños contenidos de Nitritos en los Alimentos y en los tejidos, con ayuda de una reacción mixta de novocaína y thymol del Dr. Heinz Lichtenberg, para buscar nitratos y nitritos en embutidos.

2a). Esta aplicación se efectuó en embutidos de los que se elaboran en la Ciudad de México y sus cercanías, como son -- los de las marcas siguientes:

Jamón Endiabado Marca Zwan S.A.

Jamón de Espaldilla Marca Atemajac S.A.

Jamón de Pierna Marca La Luz S.A.

Queso de Puerco Marca FUD S.A.

Salchichón estilo Viena Marca Herdez S.A.

Salchichón con Ajo Marca Delchef S.A.

Salami estilo Milano Marca Parma S.A.

Pastel de Pollo Marca KIR S.A.

Pate de Cerdo Marca Ibero-Mex S.A.

Pate de Cerdo Marca FUD S.A.

3a). En virtud de que encontramos que los métodos utilizados podían modificarse según se indica anteriormente los modificamos, con lo que logramos mayor exactitud en los resultados.

4a). Se encontró que los embutidos analizados son de excelente calidad desde el punto de vista del presente trabajo.

5a). Los cálculos de la determinación de nitritos por la reacción mixta de novocaína y thymol se hicieron con las mismas condiciones establecidas para los nitratos.

=====  
=====

## V) BIBLIOGRAFIA .

Garriga Bonjoch Mateo.

Elaboración de Embutidos, Salazones y toda clase de Productos del Cerdo.

Edit. Sintesis. Barcelona. 3a. Edición.

Gunther O. Herbert.

Métodos Modernos de Análisis Químico de Carnes y Productos - Cárnicos.

Edit. Acribia. Zaragoza. 1973.

Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de - " Nitritos en Carnes Curadas" .

D.G.N. F-97-1965.

Secretaría de Industria y Comercio.

Lichtenberg Heinz. Dr.

La determinación de pequeños contenidos de nitrito en alimentos y en los tejidos, con ayuda de una reacción mixta de no-vocaína y thymol.

Archiv Fur Kriminologie.

Tomo 121. Cuadernos 3 y 4.

Marzo y Abril de 1958, pp 63-65.

Follett & Ratcliff.

Determination of Nitrite in Meat Products.

J. Sci. Fd Agric., 1963, Vol. 14, March.

Food and Drug Administration. Department of Health, Education and Welfare.

Contract No. FDA 72-102.

A Monograph on Nitrates and Nitrites ( Including Nitrosamines ).

Mac Dougall D. & Roadhouse F. E.

A Modified Brucine Method for the Determination of Nitrate.  
Application to meat and Soil.

Canadian Journal of Research, F, 28: 280-286. July, 1950.

Rogers N. R.

A Review of the Nitrosamine Problem in Cured Meats.  
Food Product Development.

Julio-Agosto 1974. Vol 8. No 5. Pág 40.

Cassens, R.G., Sebranek, G., Kubberod, and Woolford, G.  
Where does the Nitrite goes?

Food Product Development.

Diciembre 1974. Vol 8. No 10. Pág 50.

Kemp. D. James.

Nitrate and Nitrite Substitutes in Meat Curing.

Food Product Development.

Octubre 1974. Vol 8. No 8. Pág 64.

Cantoni, C., Benatti, C., & L' Acqua, V.

Ricerche sul Comportamento di Nitrati, Nitriti, Ac Ascórbico  
nei Prodotti Carnei Conservati.

Istituto de Ispezione degli Alimenti di Origine Animale dell'  
Università de Milano.

Istituto di Farmacologia e Tossicologia Weterinaria.

Mikrochim. Acta Vol. 6, 1967. pp 1080-1085.

National Academy of Science.

Toxicants Occurring Naturally in Foods. pp. 525-526

2a. Ed. Washington, D.C. 1973

National Academy of Science.

The Use of Chemicals in Food Production Processing, Storage,  
and Distribution.

2a. Ed. Washington, D.C. 1973.

Boyd, Eldon. M.

Predictive Toxicometrics, Basis Methods for Estimating Poisonous Amounts of Foods, Drugs, and other agents.

Bristol, Scientecnica LTD, 1972.

Organización Mundial de la Salud.

Normas de Identidad y Pureza para los aditivos alimentarios - y Evaluación de su Toxicidad.

Duodécimo Informe del Comité Mixto FAO/ OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.

Ginebra, 1-8 Julio, 1968.

Ginebra, OMS/FAO, 1970.

Klubes, P., & Jondorf, W.R.

Dimethylnitrosamine formation from sodium nitrite and dimethylamine by bacterial flora of rat intestine.

Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol, 2: 24 ( 1971 ).

Lawrie, R.A.

Meat Science. pp. 260

Pergamon Press. 1972.

Govindarajan, S.

Nitrites and Nitrates in Food.

Department of Food Science and Tehnology.

University of Massachusetts / Anherat. 1973.

Cruz Ramos Rosalba., Balboa Aguirre Luz María.

Preparación y aplicación de material audiovisual y elaboración de apuntes como auxiliares en la enseñanza teórica del curso Desarrollo de Alimentos.

UNAM. 1977.